بررسی فراوانی نسبی ژنوتیپ های مختلف vacA در هلیکوباکترپیلوری جدا شده از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلا به آدنوکارسینوما، زخم اثنی عشر و نرمال / گاستریت مراجعه کننده به بیمارستان الزهرا (س) شهر اصفهان به روش PCR

سید اصغر هوائی[۱*]، رسول صالحی[۲]، سید علی فاضلی[۱]، حمید توکلی[۳]، پرویز مهاجری[۴]

۱. دانشیار گروه میکربشناسی-دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲. دانشیار گروه سلولی ملکولی- دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳. فوق تخصص بیماریهای گوارشی-عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۴. استاد یار گروه میکربشناسی-دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

نویسنده مسئول: دکتر سید اصغر هوائی، گروه میکربشناسی-دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان . تلفن: ۰۹۱۳۳۱۳۳۵۳۹. ایمیل: havaei@med.mui.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۸/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۰

چکیده

مقدمه: هلیکوباکترپیلوري ارگانیسم گرم منفي خمیده شکل است که در دستگاه گوارش انسان مستقر مي شود و باعث بروز عوارض مختلف دستگاه گوارش از جمله زخم اثني عشر، گاستریت و بدخیمي هاي معده مثل آدنوکارسینوما مي شود.

یکي از فاکتورهایي که توجه متخصصین را زیاد به خود معطوف کرده است امکان ارتباط ژنهاي خاصي از این باکتري یعني ژن هاي cagA و vacA و iceA با علائم بالیني گوناگون مي باشد. در این تحقیق فراواني ژنوتیپهاي مختلف vacA (m1 s1b1 m1s1a و m2s1a و m2s1b و m1s2 و m2s2) در سوشهاي جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت و زخمهاي اثني عشر و آدنوکارسینوما و ارتباط آن با بیماریهاي مذکور مورد بررسي قرار گرفته است.

روش ها: در مطالعه حاضر از ۱۰۰ بیمار مبتلا به بیماریهاي مذکور دربخش آندوسکوپي بیمارستان الزهرا (س) اصفهان بیوپسي تهیه گردید. پس از جداسازي هلیکوباکترپیلوري و تائید آن توسط تستهاي بیوشیمیایي، وجود آلل هاي مختلف ژن vacA توسط PCR مورد بررسي قرار گرفت.

یافته ها: از یکصد بیمار باکتري H.pylori در شرایط میکروائروفیلیك جداسازي و با آزمایشهاي بیوشیمیایي مورد تائید قرار گرفت. از یکصد بیمار باکشت مثبت ۴۰ نفر مبتلا به گاستریت ۴۰ نفر زخم اثني عشر ۲۰ نفر آدنوکارسینوما بودند. وجود آللهاي m_1s_1a در بیماران مذکور به ترتیب با فراواني ۲۵%، ۲۷/۵%، ۳۵% و m_1s_1b ۲۰%، ۲۵%، ۲۵% و m_2s_1a ۳۰%، ۳۰%، ۱۰% و m_2s_1b ۲۵%، ۱۷/۵%، ۳۰% و آلل S2 نیز در هیچکدام از باکتریهاي فوق مشاهده نشد.

نتیجه گیری: در این مطالعه رابطه معني داري بین ژنوتیپهاي مختلف vacA و بیماریهاي مذکور دیده نشد.

واژه های کلیدی: هلیکوباکترپیلوري -vacA- آدنوکارسینوما - زخم اثني عشر- نرمال /گاستریت-PCR

مقدمه

هليكوباكترپيلوري ارگانيسم گرم منفي و ميكروآئروفيليك است. اين باكتري مي تواند بطور جالبي موكوس معده را براي دهها سال، عليرغم پاسخ هاي ايمن و اكتسابي و التهابي و نيز جايگزيني پيوسته (turn over) اپيتليال معده آلوده نمايد (۱). هليكوباكترپيلوري عامل مهم زخم معده است و بعنوان ريسك فاكتوري براي ابتلا به سرطان معده محسوب مي شود(۲). شيوع عفونت در جهان بالاست. بطوريكه حدود ۸۰% افراد ۵۰-۴۰ ساله در ژاپن (۳) و بطوري كلي نيمي از جمعيت جهان به اين باكتري آلوده اند(۲). گرچه تنها در تعداد معدودي از افراد فوق ، زخم معده بروز مي كند، بيماريزايي هليكوباكترپيلوري به طور كامل شناخته نشده است. ولي فاكتورها ويرولانس مهم در اين باكتري يافت شده است كه به نظر مي رسد با وخيم شدن زخمهاي موكوس معده در رابطه باشد(۳). يكي از اين فاكتورهاي بيماريزايي ، سيتوتوكسين و اكوئلينگ است. اين توكسين قادر به القاي واكوئليشن سيتوپلاسميك در انواع رده هاي سلولي پستانداران در شرايط in vitro و نيز تخريب سلولهاي اپيتليا ل و اولسراسيون موكوزال معده موش در موارد تجربي است. اين توكسين محصول بيان ژن vac A در هليكوباكترپيلوري است. ژن مزبور تقريباً در تمام سويه هاي هليكوباكترپيلوري وجود دارد. ولي تنها نيمي از اين سويه ها قادر به القاء واكوئليشن در سلولهاي اپيتليال اند (tox+) (۴). ژنوتيپ هاي مختلفي از vac A شناخته شد ه است. اين ژن به دو ناحيه signal sequence, mid region تقسيم مي شود. ناحيه اول داراي تايپ هاي S۲, S۱ و ناحيه دوم داراي تايپ هاي m۲, m۱ است. هر يك از سويه هاي جدا شده تنها مي تواند حاوي يكي از انواع تايپ هاي ناحيه اول و دوم باشد. به عبارت ديگر يكي از چهار حالت ممكن را مي تواند دارا باشد. البته مطالعات بيشترنشان داده است كه ناحيه S۱ داراي ساب تايپ هاي S۱a, S۱b است(۳). مدارك نشان مي دهد كه تفاوت هايي بين سويه هاي مناطق جغرافيايي مختلف از نظر اين تايپ ها وجود دارد (۲). مطالعات فراواني در جهت يافتن رابطه بين ژنوتيپ ها و پي آمد نهايي عفونت بعمل آمده است كه البته برحسب موقعيت جغرافيايي متفاوت است (۵).

از جمله عوارضي كه به هليكوباكترپيلوري و ژنوتيپ هاي آن نسبت داده مي شود مي توان به Duodenal ulcer, Normal gasteritis, Gastric cancer/ اشاره كرد(۳). شناخت كامل خصوصيات ژنتيكي اين باكتري و رابطه اين خصوصيات ژنتيكي با عوارض ايجاد شده، نقطه عطفي در ارائه روشهاي تشخيص و پيشگيري زخم معده و سرطان معده خواهد بود. همانطور كه اشاره شد ژنوتيپ هاي اين باكتري برحسب موقعيت جغرافيايي متفاوت است. لذا شناخت ژنوتيپ هاي موجود در ايران و نيز ژنوتيپ غالب جهت حصول به اين هدف لازم و ضروري است. طبق بررسي هاي انجام شده تاكنون در جهت تعيين ژنوتيپ هاي هليكوباكترپيلوري از نظر ژن vac A مطالعه اي در ايران و حتي خاورميانه صورت نگرفته است. در حاليكه در كشورهاي شرق آسيا مثل ژاپن، چين، سنگاپور و كشورهاي اروپايي و آمريكايي مطالعا ت كاملي در اين زمينه انجام شده است. با توجه به اينكه آژانس بين المللي تحقيق بر روي سرطان ، ۵۵% از سرطان هاي معده را به اين باكتري نسبت مي دهد(۶). بدين دليل هليكوباكترپيلوري را در كلاس يك كارسينوژن هاي معده قرار مي دهند(۷).

مواد و روش ها

با توجه به هدف ا صلي اين مطالعه , ،تحقيق ما از نوع توصيفي تحليلي Diagostic- testing study بود. جامعه مورد مطالعه بيماران داراي ديس پپسيا يا مشكوك به داشتن دئودنال اولسرا يا آدنوكارسينوما از نظر باليني بود كه به بخش آندوسكوپي بيماران الزهرا مراجعه كردند. نمونه گيري توسط پنس مخصوص از كانال آندوسكوپ صورت گرفت. در مورد بيماراني كه كا نسر معده از نظر نماي آندوسكوپيك داشتند يا داراي زخم معده بودند، حداقل ۶ نمونه از محل توده يا حاشيه زخم گرفته شد. بيماران مبتلا به كانسر معده پس از تائيد پاتولوژي وارد مطالعه شدند. در موردكليه بيماران از ناحيه incisura يا prepyloric، نمونه جهت كشت براي هليكوباكترپيلوري گرفته شد. در صورت گرفتاري اين نواحي توسط توده تومورال ناشي از كانسر معده بيوپسي از نواحي ديگر معده گرفته شد و معيارهاي ورود به مطالعه ، بيماران داراي نماي باليني ضايعات زير بود:

۱- كانسر (CA) : بيماران با آدنوكارسينوم معده كه قبلاً تحت درمان (شيميوتراپي) قرار نگرفته بودند. كانسر اين افراد از طريق پاتولوژي ثابت شد.

۲- دئودنال اولسر (DU): بیمارات با اولسرهاي پپتيك ، با يك دئودنال لوكوليزيشن بر اساس يافته هاي آندوسكوپيك .

۳- نرمال /گاستريت (NUD): بيماران با معده نرمال يا گاستريت مزمن نان آئروفيليك يا سوپرفاشيال .

روش نمونه گيري از نوع آسان بود. ۱۰۰ بيماري كه داراي كشت مثبت هليكوباكترپيلوري بودند به سه گروه تقسيم شدند:

۱- ۴۰ بيمار مبتلا به دئودنال اولسر (DU)

۲- ۴۰ بيمار مبتلا به نرمال /گاستري (NUD)

۳- ۲۰ بيمار مبتلا به كانسر (CA)

يكي از نمونه هاي بيوپسي شده جهت انجام تست RUT - rapid urease test به لوله حاوي محيط كشت اوره وارد شد و نتيجه حاصل از روي تغيير رنگ محيط ثبت شد. بيوپسي ديگر در شرايط استريل و به سرعت به محلول نرمال سالين منتقل شد و حداكثر در مدت ۲ ساعت نمونه به آزمايشگاه ميكروب شناسي منتقل شد. در شرايط استريل له شده و بر روي محيط كشت اختصاصي هليكوباكترپيلوري كه حاوي محيط غني و مكمل (آنتي بيوتيك) و كشت داده شد. شرايط ميكروآئروفيليك با CO_2 ۱۰% به كمك Gaspack براي رشد باكتري فراهم شد. جار مربوطه به انكوباتور منتقل و ۹۶-۴۸ ساعت در دماي ۳۵ درجه سا نتي گراد انكوبه شد. كشت خالص تهيه شده و تستهاي بيوشيميايي افتراقي مثل كاتالاز، اكسيداز، اوره آز و نيز رنگ آميزي گرم انجام شد. باكتري ها در محيط BHI و فريزر ۸۰- درجه سانتي گراد نگهداري شد. در اولين مرحله به كمك كيت Pure PCR Template Preparation kit ژنوم باكتري استخراج شد. ميزان خلوص DNA استخراج شده به كمك اسپكتروفتومتر اپندورف و ميزان جذب نور در ۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر تعيين شد.

پرايمرهاي اختصاصي (جدول شماره ۱) براي ژنوتيپ هاي مختلف vac A يعني m۱, m۲, s۱a, s۱b به كار رفت(۴). سيكل دمايي براي انجام PCR، به اين صورت اعمال گرديد: دماي ۹۵ درجه سانتي گراد به مدت ۱ دقيقه، دماي ۵۲ درجه سانتي گراد به مدت ۱ دقيقه، دماي ۷۲ درجه سانتي گراد به مدت ۱ دقيقه براي ۳۵ سيكل . پس از انجام PCR محصول مربوطه توسط آگارز ژل الكتروفورز و رنگ آميزي با اتيديوم بروماید بررسي گرديد . بر مبناي اندازه باندهاي ايجاد شده در مقايسه با ماركر وزن ملكولي ژنوتيپ سويه ها از نظر vac A مورد ارزيابي قرار گرفت.

يافته ها :

مطالعه انجام شده بر روي سويه هاي هليكوباكترپيلوري حاكي از آن است كه چهار ژنوتيپ مختلف m۲s۱b, m۲s۱a, m۱s۱b, m۱s۱a مربوط به vac A در ميان اين باكتري ها وجود دارد و قطعه s۲ در هيچكدام از موارد فوق مشاهده نشد.

جدول شماره ۲، توزيع فراواني ژنوتيپ هاي مختلف vac A را در سويه هاي جدا شده از نمونه هاي بيوپسي معده مربوط به بيماري هاي مختلف (گاستريت، زخم اثني عشر، آدنوكارسينوما) نشان مي دهد. آزمون k۲ نشان مي دهد كه بين ژنوتيپ هاي مختلف vac A و بيماريهاي ياد شده رابطه اي وجود ندارد. (P = ۰.۶۴) مطالعه ما نشان مي دهد كه ژنوتيپ غالب در مورد گاستريت و زخم اثني عشر m۲s۱a است در حاليكه در خصوص آدنوكارسينوما m۱s۱a مي باشد. البته همانطوركه ذكر شد اين اختلاف معني دار نيست.

بحث

از زمان كشف ارتباط عوارض گوارشي و هليكوباكترپيلوري بيش از دو دهه نمي گذرند ولي در اين مدت , مطالعات بسيار زيادي در اين خصوص انجام گرفته است. برخي از اين مطالعات در مورد تعيين فراواني ژنوتيپ هاي مختلف برحسب منطقه جغرافيايي است كه مي تواند اطلاعات مفيدي را براي تحقيقات بعدي، مخصوصاً ارائه روشهاي پيشگيري و درمان ايفا نمايد. مطالعه اي كه ما انجام داديم حاكي از آن است كه در منطقه اصفهان ناحيه S۲ در ژنوم هليكوباكترپيلوري ها ديده نمي شود ودر مقابل نواحي m۱ , m۲ از منطقه s۱a , mid region و s۱b از ناحيه signal sequence ژنوم هليكوباكترپيلوري مشاهده مي شود.

مطالعه انجام گرفته توسط van Doorn فراواني ژنوتيپ هاي m۲s۱b, m۲s۱a, m۱s۱b, m۱s۱a را به ترتيب ۳۰، ۲، ۵ و ۵ درصد و فراواني را ۳۰ درصد نشان مي دهد. اين مقادير در مطالعه ما به ترتيب ۲۸، ۲۳، ۲۶ و ۲۳ درصد است كه حاكي از تفاوت فراواني ژنوتيپ هاي مختلف بر حسب منطقه جغرافيايي است (۸).

مطالعه انجام شده توسط strobel در آلمان نيز حاكي از آن

است که ۹۶% سویه های جدا شده در این کشور حاوی ژن s۱، ۴% حاوی ژن s۲ و ۵۱% سویه ها حاوی ژن m۱ اند(۹). مطالعه دیگری که در آلمان توسط Rai Han انجام شده این مقادیر را ۸۳%، ۱۶% و ۵۱% نشان می دهد که نشان از شباهت دو مطالعه انجام گرفته در آلمان است (۱۰).

مطالعه ای که اخیرا (۲۰۰۷) در تایلند انجام گرفته است فراوانی ژنوتیپ های S۱ و S۲ را به ترتیب ۱۰۰% و ۰% نشان می دهد که مطابق با مطالعه انجام شده در شهر اصفهان است. (۱۱)

مطالعات انجام گرفته حاکی از آن است که سایتوتوکسین مرتبط با vac A در هلیکوباکترپیلوری نیز همانند سایر فاکتورهای باکتریال و کد شونده توسط نواحی Cag PAI, AIP, oiP, Sab, Bab در بیماریزائی هلیکوباکترپیلوری دخالت دارد. (۱۲).

در مطالعه ای که اخیرا توسط Con در کاستاریکا انجام گرفته است فراوانی ژنوتیپ s۱b ۷۵،۲%, و فراوانی ژنوتیپ m۱ ۷۴،۲% گزارش شده است. در این مطالعه همچنین رابطه معنی داری بین ژنوتیپ m۱ و گاستریت مشاهده شده است. در مطالعه ای که انجام دادیم فراوانی ژنوتیپ S۱b و m۱ در گاستریت هر کدام ۴۵% به دست آمد که به نسبت مطالعه فوق در صد کمتری را تشکیل می دهد. ولی بر خلاف مطالعه فوق رابطه معنی داری بین ژنوتیپ m۱ و گاستریت مشاهده نشد. (۱۳)

مطالعه ای که Garcia در سال ۲۰۰۶ در کشور شیلی انجام داده است نیز فراوانی ژنوتیپ های m۱, s۲, s۱b, s۱a و m۲ را به ترتیب حدود ۴۲، ۲۱، ۲۶، ۳۲، و ۴۴ در صد نشان می دهد. البته نمونه گیری در این مطالعه بر اساس نوع عارضه ایجاد شده انجام نشده است. در مطالعه ما این مقادیر به ترتیب ۵۴، ۴۶، ۰، ۵۱ و ۴۹ درصد به دست آمده است. همانطور که مشاهده می شود در مطالعه فوق در صد قابل توجهی (۲۶%) از نمونه ها دارای ژنوتیپ S۲ هستند ولی در مطالعه ما این ژنوتیپ یافت نشد. (۱۴)

در مطالعه ای که linpisarn در سال ۲۰۰۷ در تایلند بروی ۵۸ مورد گاستریت، ۲۸ مورد گاستریت اولسر، ۴۵ مورد دئودنال اولسر و ۴ مورد کانسر معده انجام داده است فراوانی ژنوتیپ S۱a، ۸۱% و فراوانی ژنوتیپ S۱a/ m۱ نیز ۲۱% گزارش شده است. فراوانی ژنوتیپ S۱a در مطالعه ما به نسبت پایین تر از این مقدار ولی فراوانی ژنوتیپ S۱a/ m۱ بسیار شبیه مورد فوق (۲۸%) می باشد. (۱۵)

با توجه به مطالعات ذکر شده می توان نتیجه گرفت که فراوانی ژنوتیپ S۲ در اکثر مطالعات پایین میباشد که مطالعه ما نیز تاییدی برای این موضوع است. سایر ژنوتیپ ها یعنی S۱a, S۱b, m۱ و m۲ نیز در مناطق مختلف دارای تفاوتهای قابل توجهی است که نشان از تنوع پراکندگی این ژنوتیپها دارد.

مطالعه Erzin در سال ۲۰۰۶ در کشور ترکیه نشان میدهد که فراوانی ژنوتیپ های S۱m۱ و S۱m۲ به ترتیب حدود ۴۱% و ۴۸% می باشد و نیز فراوانی ژنوتیپ S۱a در زمان (اولسر دیسپپسیا) دئودنال اولسر و کانسر معده به ترتیب حدود ۶۷، ۹۷، ۸۸ درصد می باشد. (۱۶)

در مطالعه ای که اخیرا توسط Chomvarin در تایلند انجام شده است رابطه معنی داری بین ژنوتیپ های vac A و سایر ژن های ویرولانس مثل ice, cag A و bab و نوع عارضه ایجاد شده در بیمار یافت نشده است که تایید کننده نتایج مطالعه است. (۱۱)

نتیجه گیری

بر اساس یافته های این مطالعه و بررسی حاصل از مطالعات انجام شده در این زمینه، در یك نگاه كلي مي توان دریافت که نوع ژنوتیپ vac A هلیکوباکترپیلوري رابطه اي با نوع بیماري آنها ندارد. لذا در بیماران مختلف ممکن است هر کدام از ژنوتیپ هاي vac A در هلیکوباکترپیلوري ایجاد کننده عارضه مشاهده شود.

منابع

1- Kersulyte D, Mukhopadhyay AK, Velapatiño B, Su W, Pan Z, Garcia C, et al. Differences in genotypes of Helicobacter pylori from different human populations. J Bacteriol 2000; 182(11):3210-8.

2- Mukhopadhyay AK, Kersulyte D, Jeong JY, Datta S, Ito Y, Chowdhury A, et al. Distinctiveness of genotypes of Helicobacter pylori in Calcutta, India. J Bacteriol 2000; 182(11):3219-27.

3- Maeda S, Ogura K, Yoshida H, Kanai F, Ikenoue T, Kato N, et al. Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in Helicobacter pylori isolates in Japan.Gut 1998; 42(3):338-43.

4- Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL.Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem 1995; 270(30):17771-7.

5- Gunn MC, Stephens JC, Stewart JA, Rathbone BJ, West KP. The significance of cagA and vacA subtypes of Helicobacter pylori in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. J Clin Pathol 1998; 51(10):761-4.

6- Fazeli A, Nafisi M, Evaluation of diagnosis from h.pilory by whole- cell ELISA and HM-cap ELISA methods. feiz journal of Kashan University of Medical sciences. 2002, 3(12):30-38.

7- Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM,et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection with a new non-invasive antigen-based
assay. HpSA European study group. Lancet 1999; 354(9172):30-3.

8- Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, et al. Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of Helicobacter pylori. Gastroenterology 1998 ; 115(1):58-66.

9- Strobel S, Bereswill S, Balig P, Allgaier P, Sonntag HG, Kist M. Identification and analysis of a new vacA genotype variant of Helicobacter pylori in different patient groups in Germany. J Clin Microbiol 1998; 36(5):1285-9.

10- Han SR, Schreiber HJ, Bhakdi S, Loos M, Maeurer MJ. VacA genotypes and genetic diversity in clinical isolates of Helicobacter pylori. Clin Diagn Lab Immunol 1998; 5(2):139-45.

11-Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P, Sangchan A, Sripa B, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA and babA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. Int J Infect Dis 2008; 12(1):30-6.

12- Maeda S, Mentis AF. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter 2007; 12 Suppl 1: 10-4.

13- Con SA, Takeuchi H, Valerín AL, Con-Wong R, Con-Chin GR, Con-Chin VG, et al. Diversity of Helicobacter pylori cagA and vacA genes in Costa Rica: its relationship with atrophic gastritis and gastric cancer. Helicobacter 2007; 21 (5):547-52.

14- García A, Barra R, Delgado C, Kawaguchi F, Trabal N, Montenegro S, et al.Genotypying of clinical isolates of Helicobacter pylori by cagA, vacA and babA2 virulence associated genes. First detection of a babA2 positive strain in Chilean patients. Rev Med Chil 2006; 134(8):981-8.

15- Linpisarn S, Suwan W, Lertprasertsuk N, Koosirirat C, Steger HF, Prommuangyong K,et al. Helicobacter pylori cagA, vacA and iceA genotypes in northern Thai patients with gastric disease. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38(2):356-62.

16- Erzin Y, Koksal V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA, babA2 genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia.Helicobacter 2006; 11(6):574-80.

جدول ۱: پرایمرهاي آلل هاي VAC a هليكوباكتر پيلوري

Region amplified	Primer designation	Primer sequence	Size and location of PCR product
m1:	VA3- F	5' GGTCAAAATGCGGTCATGG 3'	290 bP
	VA3- R	5' CCATTGGTACCTGTAGAAAC 3'	
m2:	VA4- F	5' GGAGCCCCAGGAAACATTG 3'	352 bp
	VA4- R	5' CATAACTAGCGCCTTGCAC 3'	
s1a:	SS1- F	5' GTCAGCATCACACCGCAAC 3'	190 bp
	VA1-R	5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	
s1b:	SS3-F	5' AGCGCCATACCGCAAGAG 3'	187 bp
	VA1-R	5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	
s2:	SS2- F	5' GCTAACACGCCAAATGATCC 3'	199 bp
	VA1-R	5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	

جدول ۲- توزيع فراواني ژنوتيپ هاي مختلف *vac A* در هليكوباكترپيلوري هاي جدا شده از نمونه هاي معده

بیماریها / ژنوتیپ ها	گاستریت		زخم اثنی عشر		آدنوکارسینوما		حالت کلی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
M1s1a	۱۰	۲۵	۱۱	۲۷/۵	۷	۳۵	۲۸	۲۸
M1s1b	۸	۲۰	۱۰	۲۵	۵	۲۵	۲۳	۲۳
M2s1a	۱۲	۳۰	۱۲	۳۰	۲	۱۰	۲۶	۲۶
M2s1b	۱۰	۲۵	۷	۱۷/۵	۶	۳۰	۲۳	۲۳
جمع	۴۰	۱۰۰	۴۰	۱۰۰	۲۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

Study of vac A genotypes of H.pylori isolated from patients with the upper gastrointestinal diseases by PCR

Seyed Asghar Havaei [1]- Rasool Salehi [2]- Seyed Ali Fazeli [1]- Hamid Tavakoli [3]- Parviz Mohajeri [4]

1. Dept. of Microbiology, Schcool of Medicin, Isfahan Unive of Med. Sciences

2. Dept. of Cell Biology, Schcool of Medicin, Isfahan Unive of Med. Sciences

3. Schcool of Medicin, Isfahan Unive of Med. Sciences

4. Schcool of Medicin, Kerman Shah , Unive of Med. Sciences

Abstract

Introduction:

Helicobacter pylori is a gram negative curved bacilli which is colonized in the human stomach. It causes duodental ulcer, gastritis and is associated with adenocarinoma. There might be a possible relationship between cagA, vacA and ice a genes and clinical outcomes. The aim of this study was to identify the frequency od vacA genotypes of H.pylori isolated from the upper gastrointestinal.

Methods:

In tis study, 100 H. pylori strains were isolated from patients with different gastrointestinal disease in Azahra hospital. Vac A alleles were typed using PCR with specific primers.

Finding:

There were four Vac A mosaicsms, including 28 for s1a/ m1 (28%), 23 for s1b/m1 (23%), 26 for s1a/m2 (26%) and 23 for s1b/m2 (23%), s2 form was not found.

Conclusion:

The results showed there is no significant relationship between fifferent genotypes of vacA and the related diseases.

Key words: Helicobacter pylori- vac A- Adenocarinoma. - Duodental ulcer- Normal /Gastritis - PCR